

УДК 615.272.4-06:616-056.5:616.379-008.64]-092.9

К. А. Посохова, Н. Б. Зозуляк, В. В. Ніколаєва
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

МЕТАБОЛІЧНІ ПОРУШЕННЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ 2 ТИПУ ТА ПРИЗНАЧЕННІ ВОДОРОЗЧИННОЇ ФОРМИ КВЕРЦЕТИНУ

Встановлено, що при цукровому діабеті 2 типу (утримування щурів на високожировій дієті, одноразове введення стрептозотоцину, 30 мг/кг) відбувається зростання у крові рівнів глюкози, загального холестерину, тригліцеридів, активності аланін- і аспартатамінотрансферази, лужної фосфатази, вмісту білірубину, в печінці – активація пероксидного окиснення ліпідів, дискоординація активності ферментів мітохондрій. Водорозчинна форма кверцетину (10 мг/кг, протягом 2 тижнів) сприяє зниженню рівня глюкози в крові, позитивним змінам показників ліпідного обміну та зменшенню ознак ураження печінки при цукровому діабеті 2 типу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: цукровий діабет 2 типу, метаболічні порушення, печінка, кверцетин.

ВСТУП. Цукровий діабет (ЦД) є найбільш поширеним ендокринним захворюванням на планеті, що має тенденцію до безперервного зростання. Згідно зі статистикою, кожні 10–15 років кількість хворих на цю патологію подвоюється, причому частка хворих на ЦД 2 типу становить 85–90 % від їх загальної кількості [2, 12]. Серед тяжких ускладнень даного захворювання важливе місце посідає неалкогольний стеатогепатит (НАСГ), для якого характерні запальна інфільтрація печінки на тлі жирової дистрофії гепатоцитів та фіброз, які можуть сприяти розвитку стеатогенного цирозу печінки [13]. Встановлено також, що у 75 % хворих на ЦД 2 типу є та чи інша стадія НАСГ [11]. При цьому суттєво поглиблюються метаболічні зміни, характерні для ЦД [9]. Виходячи з вищезазначеного, актуальним залишається питання щодо встановлення метаболічних порушень при цукровому діабеті 2 типу, зокрема біохімічних ознак і молекулярних механізмів ураження печінки, та пошуку ефективних способів їх корекції.

Метою даної роботи було встановити біохімічні зміни при експериментальному цукровому діабеті 2 типу та вплив водорозчинної форми кверцетину на порушення, які виникають.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на нелінійних білих щурах-самцях масою 200–250 г. Піддослідних тварин поділили на три групи: 1-ша – контроль (інтактні тварини); 2-га – тварини з ЦД; тваринам

3-ї групи з ЦД вводили водорозчинну форму кверцетину (корвітин, Борщагівський хім.-фарм. завод, м. Київ; у дозі 10 мг/кг маси тіла, внутрішньочеревно, щоденно, починаючи через 10 тижнів після введення STZ, протягом 2 тижнів) [8, 10]. Моделювання ЦД 2 типу здійснювали шляхом одноразового внутрішньочеревного введення стрептозотоцину (STZ, Sigma, США, 30 мг/кг маси тіла) [14] після попереднього чотиритижневого утримування щурів на високожировій дієті [14]. STZ безпосередньо перед введенням розчиняли в 0,1 молярному цитратному буфері (рН 4,5); контрольній групі тварин вводили відповідну кількість цитратного буфера. В експерименті використовували щурів з рівнем глюкози не нижче 10,8 ммоль/л через 2 тижні після введення STZ. Контрольну групу тварин утримували на стандартній дієті. При роботі зі щурами дотримувались принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Досліджували сироватку крові та тканину печінки. Визначали: у сироватці крові – рівень глюкози, активність лужної фосфатази (ЛФ), аланінамінонотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), загального білірубину, загального холестерину (ЗХС), тригліцеридів (ТГ) (за стандартними наборами ООО НПП “Філісит діагностика”, Україна); у гомогенатах тканини печінки – вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [1], активність каталази (КАТ) [7], сукцинатдегідрогенази (СДГ) [5] та цитохромоксидази (ЦХО) [6].

© К. А. Посохова, Н. Б. Зозуляк, В. В. Ніколаєва, 2012.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили, використовуючи t-критерій Стюдента, за допомогою програми "Excel". Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. У ході досліджень ми встановили, що концентрація глюкози в крові тварин з експериментальним ЦД 2 типу зростала на 233,5 % проти відповідного показника у контрольній групі, що є одним з достовірних критеріїв адекватного моделювання патології. Біохімічні показники функцій печінки є головними критеріями, які дають змогу оцінити її стан і з'ясувати характер ураження. У наших досліджах виявлено зростання АлАТ на 33,3 %, АсАТ – на 7,1 %, ЛФ – на 81,9 %, загального білірубину – на 45,3 % порівняно з контрольною групою щурів (табл.). Отримані зміни свідчать про наявність в експериментальних тварин з ЦД симптомів гепатопатії, що характеризується цитолітичними та холестатичними процесами.

У тварин з ЦД, які отримували кверцетин, рівень глюкози був нижчим на 47,1 %, ніж у щурів, яким не проводили корекцію (табл.). Одночасно спостерігались ознаки поліпшення стану печінки. Зокрема, знижувались активність АлАТ – на 15,3 % (при незмінному рівні АсАТ), ЛФ – на 28,6 %, вміст загального білірубину – на 27,5 %. Ймовірно, отримані зміни зумовлені потужною антиоксидантною та мембраностабілізуювальною властивостями кверцетину [4].

При аналізі показників ліпідного обміну встановлено, що за умов розвитку ЦД 2 типу відбувалося зростання в крові рівня загального холестерину – на 104 % та тригліцеридів – на 155 %. Такі зміни також підтверджують розвиток експериментального ЦД

2 типу, для якого характерні гіперхолестеринемія та гіпертригліцеридемія [3]. На фоні введення водорозчинної форми кверцетину спостерігалось зниження рівнів загального холестерину і тригліцеридів – на 40,4 та 51,7 % відповідно порівняно з групою тварин із ЦД (табл.).

Про посилення пероксидного окиснення ліпідів у печінці при ЦД 2 типу свідчило зростання рівня ТБК-активних продуктів у гомогенатах органа на 129,0 %. При цьому відмічали компенсаторне збільшення активності каталази у печінці на 19,2 %. У групі щурів, яким вводили кверцетин, спостерігали зниження вмісту ТБК-активних продуктів на 41 %, активності каталази – на 11 %. У тварин із ЦД зареєстровано порушення функціонування електронно-транспортного ланцюга мітохондрій у печінці, про що свідчило підвищення активності СДГ на 25,4 % з одночасним зменшенням активності ЦХО на 17,4 %. На фоні введення кверцетину рівень СДГ знижувався на 16,0 %, рівень ЦХО, навпаки, збільшувався на 12,3 % порівняно з групою щурів із діабетом, які не отримували корекції (табл.).

Таким чином, при експериментальному цукровому діабеті 2 типу водорозчинна форма кверцетину сприяє зниженню рівня глюкози в крові, позитивним змінам показників ліпідного обміну та зменшенню ознак ураження печінки.

ВИСНОВКИ. 1. При експериментальному цукровому діабеті 2 типу відбувається зростання в крові рівнів глюкози, загального холестерину, тригліцеридів, що супроводжується біохімічними змінами, які свідчать про ураження печінки: підвищенням активності АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази, вмісту білірубину – в

Таблиця – Біохімічні показники сироватки крові та печінки при експериментальному цукровому діабеті 2 типу і застосуванні водорозчинної форми кверцетину ($M \pm m$)

Показник	Група тварин		
	контроль	STZ-діабет	STZ-діабет+ кверцетин
Глюкоза, ммоль/л	4,9 \pm 0,38	16,34 \pm 1,4*	8,65 \pm 0,62**/*
АлАТ, мккат/л	1,71 \pm 0,08	2,28 \pm 0,04*	1,93 \pm 0,07**
АсАТ, мккат/л	1,97 \pm 0,20	2,11 \pm 0,16	2,06 \pm 0,19**
ЛФ, ммоль/(л год)	1,27 \pm 0,21	2,31 \pm 0,11*	1,65 \pm 0,13**
Загальний білірубін, мкмоль/л	2,25 \pm 0,19	3,27 \pm 0,13*	2,37 \pm 0,15**
Загальний холестерин, ммоль/л	2,22 \pm 0,17	4,53 \pm 0,27*	2,70 \pm 0,13**/*
Тригліцериди, ммоль/л	1,29 \pm 0,13	3,29 \pm 0,16*	1,59 \pm 0,13**
ТБК-АП, мкмоль/кг	1,30 \pm 0,14	2,98 \pm 0,17*	1,75 \pm 0,82**
Каталаза, кат/кг	8,40 \pm 0,30	10,01 \pm 0,27*	8,91 \pm 0,16**
СДГ, ммоль/(кг хв)	5,86 \pm 0,34	7,35 \pm 0,16*	6,18 \pm 0,19**
ЦХО, ммоль/(кг хв)	8,20 \pm 0,26	6,77 \pm 0,16*	7,60 \pm 0,15**

Примітка. Різниця достовірна: * – відносно контролю, ** – відносно STZ-діабету.

сироватці крові, збільшенням рівня ТБК-активних продуктів, активності каталази, дискоординацією активності ферментів мітохондрій – у гомогенатах печінки.

2. Водорозчинна форма кверцетину у тварин з діабетом 2 типу сприяє зниженню в

крові рівнів глюкози, загального холестерину, тригліцеридів, загального білірубину, активності АлАТ, лужної фосфатази, у печінці – зменшенню порушень у системах прооксиданти/антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.

2. Бабичева О. О. Дисбаланс показників біоелементного обміну і взаємозв'язок з перебігом неалкогольної жирової хвороби печінки у хворих на цукровий діабет 2 типу / О. О. Бабичева // Медицина сьогодні і завтра. – 2010. – № 4 (49). – С. 77–80.

3. Відтворення експериментальної стрептозоточин-індукованої моделі цукрового діабету 2 типу у щурів / Т. І. Геленова, В. В. Конопельнюк, О. М. Савчук [та ін.] // Фізика живого. – 2010. – **18**, № 3. – С. 50–54.

4. Деримедвідь Л. В. Можливості застосування комбінацій природних антиоксидантів за умов первинної інсулінорезистентності / Л. В. Деримедвідь, І. П. Бухтіярова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 2 (21). – С. 37–42.

5. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 207–210.

6. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Р. С. Кривченкова // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.

7. Метод определения активности каталазы / М. А. Корольюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.

8. Торгалло Є. О. Особливості процесів вільнорадикального окиснення ліпідів за умов експери-

ментального геморагічного інсульту, а також вивчення дії антиоксидантних препаратів / Є. О. Торгалло, Я. Б. Раєцька // Фізика живого. – 2009. – **17**, №1. – С. 155–158.

9. Харченко В. В. Структурно-функціональний стан еритроцита і корекція порушень при неалкогольній жировій хворобі печінки в поєднанні із гіпертонічною хворобою / В. В. Харченко // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 2 (46). – С. 29–33.

10. Low dose streptozotocin (STZ) combined with high energy intake can effectively induce type 2 diabetes through altering the related gene expression / Hui Jie Wang, Yuan Xiang Jin PhD, Wan Shen [et al.] // Asia Pac. J. Clin. Nutr. – 2007. – № 16 (Suppl 1). – P. 412–417.

11. Mohili J. Relation between leptin and insulin in patients with type 2 diabetes mellitus [Text] / J. Mohili, D. Gujug // Turkish J. Endocrinology and Metabol. – 2005. – № 2. – P. 55–58.

12. Type-2 Diabetes Mellitus and Malaria Parasitaemia: Effect on Liver Function Tests / E. J. Ikekpeazu, E. E. Neboh, I. C. Maduka [et al.] // Asian Journal of Medical Sciences. – 2010. – № 2 (5). – P. 214–217.

13. Quercetin downregulates NADPH oxidase, increases eNOS activity and prevents endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats [Електронний ресурс] / Sanchez Manuel, Galisteo Milagros, Vera Rocio [et al.] // Journal of Hypertension. – 2006. – № 24 (1). – P. 75–84.

14. Xiu-Hua Shen. Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity / Xiu-Hua Shen, Qing-Ya Tang, Juan Huang // Experimental Biology and Medicine. – 2010. – № 235. – P. 47–51.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА И НАЗНАЧЕНИИ ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ КВЕРЦЕТИНА

Резюме

Установлено, что при сахарном диабете 2 типа (содержание крыс на высокожировой диете, однократное введение стрептозотоцина, 30 мг/кг) происходит возрастание в крови уровней глюкозы, общего холестерина, триглицеридов, активности аланин- и аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, содержания билирубина, в печени – активация пероксидного окисления липидов, дискоординация активности ферментов митохондрий. Водорастворимая форма кверцетина (10 мг/кг, в течение 2 недель) способствует снижению уровня глюкозы в крови, положительным изменениям показателей липидного обмена и уменьшению признаков поражения печени при сахарном диабете 2 типа.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет 2 типа, метаболические нарушения, печень, кверцетин.

K. A. Posokhova, N. B. Zozulyak, V. V. Nikolayeva
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

METABOLIC DISORDERS AT EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS OF TYPE 2 AND UNDER THE INFLUENCE OF WATER SOLUBLE FORM OF CUERCETIN

Summary

It was proved that experimental diabetes mellitus of type 2 (high fat diet, single injection of streptozotocine, 30 mg/kg) is accompanied with an increase of glucose, cholesterol, triglycerides, bilirubine level, activity of aminotransferases, alkaline phosphatase in blood, in liver – with activation of lipid peroxidation, discoordination of mitochondrial enzymes activities. Water soluble form of cuercetin (10 mg/kg, during 2 weeks) causes the decrease of glucose level in blood, attenuates lipid metabolism changes and signs of liver damage in diabetes mellitus of type 2.

KEY WORDS: diabetes mellitus of type 2, metabolic changes, liver, cuercetin.

Отримано 20.08.12

Адреса для листування: К. А. Посохова, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.